

# 病原体検出情報還元(病原体個票)

[HELP](#)

- コレラ
- 細菌性赤痢
- 腸チフス
- 腸管出血性大腸菌感染症
- インフルエンザ
- 咽頭結膜熱
- A群溶レン菌咽頭炎
- 感染性胃腸炎
- 手足口病
- 突発性発疹
- ヘルパンギーナ
- 麻疹
- 流行性耳下腺炎
- 急性出血性結膜炎
- 流行性角結膜炎
- 淋菌感染症
- 急性脳炎
- 細菌性髄膜炎
- 無菌性髄膜炎
- 不明・記載なし
- 下気道炎
- 川崎病
- クルーズ症候群
- 上気道炎
- 食中毒
- 腸重積症
- 熱性けいれん
- 百日咳様疾患
- 不明熱
- 不明発疹症
- 健康者・検査希望
- その他
- インフルエンザ様疾患
- かぜ症候群
- 夏かせ

内容	病原体	発病年月日	検体採取年月日	報告機関名	年齢	性	症状	転帰	海外渡航歴	分離材料
<b>コレラ</b> <span style="float: right;">先頭に戻る</span>										
変更	V.cholerae O1 CT+	2000.07.28	2000.07.31	宮城県	59歳	男	有	不明	有	便
<b>細菌性赤痢</b> <span style="float: right;">先頭に戻る</span>										
初回	S.flexneri 1b	2001.03.06	2001.03.15	成田空港検疫所	21歳	女	有	不明	有	便
初回	S.flexneri 2b	2001.03.06	2001.03.15	成田空港検疫所	21歳	女	有	不明	有	便
初回	S.flexneri 2b	2001.03.01	2001.03.08	成田空港検疫所	22歳	男	有	不明	有	便
初回	S.boydii Not typed	2001.02.16	2001.02.17	福岡空港支所	27歳	男	有	不明	有	便
初回	S.sonnei	2001.03.12	2001.03.23	成田空港検疫所	26歳	男	有	不明	有	便
初回	S.sonnei	2001.03.17	2001.03.19	成田空港検疫所	20歳	女	有	不明	有	便
初回	S.sonnei	2001.03.14	2001.03.18	成田空港検疫所	24歳	男	有	不明	有	便
<b>腸チフス</b> <span style="float: right;">先頭に戻る</span>										
初回	S.Typhi B2	2001.01.05	2001.01.22	千葉県	35歳	女	有	治癒	有	血
<b>腸管出血性大腸菌感染症</b> <span style="float: right;">先頭に戻る</span>										
初回	EHEC/VTEC O157:HNT		2001.03.21	千葉県	29歳	女	有	不明	無	便
初回	EHEC/VTEC OUT:HNT		2001.03.21	千葉県	9歳	女	有	不明	無	便
初回	EHEC/VTEC O157:H7	2001.03.14	2001.03.16	宮城県	34歳	男	有	不明	不明	便
初回	EHEC/VTEC O157:H-	2001.03.10	2001.03.16	千葉県	22歳	女	有	経過観察中	無	便
初回	EHEC/VTEC O157:HNT	2001.03.14	2001.03.16	千葉県	14歳	女	有	経過観察中	無	便
初回	EHEC/VTEC O157:HNT	2001.03.13	2001.03.15	千葉県	18歳	女	有	経過観察中	無	便
初回	EHEC/VTEC O157:HNT	2001.03.14	2001.03.15	千葉県	8歳	男	有	経過観察中	無	便
初回	EHEC/VTEC O157:HNT	2001.03.13	2001.03.15	千葉県	10歳	男	有	経過観察中	無	便
初回	EHEC/VTEC O157:HNT	2001.03.13	2001.03.15	千葉県	4歳	女	有	経過観察中	無	便
初回	EHEC/VTEC O157:HNT	2001.03.15	2001.03.14	千葉県	5歳	女	有	軽快	無	便
初回	EHEC/VTEC O157:H7	2001.03.05	2001.03.09	大阪府	29歳	男	有	不明	不明	便
初回	EHEC/VTEC O157:HNT	2001.03.05	2001.03.07	千葉県	22歳	女	有	経過観察中	無	便
<b>インフルエンザ</b> <span style="float: right;">先頭に戻る</span>										
初回	INF.A(H1)	2001.03.18	2001.03.22	広島市	2歳	女	有	経過観察中	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.21	2001.03.22	広島市	1歳	男	有	経過観察中	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.21	2001.03.22	北九州市	10歳	男	有	不明	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.20	2001.03.21	青森県	3歳	男	有	軽快	無	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.19	2001.03.19	青森県	3歳	男	有	軽快	無	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.19	2001.03.19	青森県	3歳	女	有	軽快	無	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.19	2001.03.19	青森県	7歳	女	有	軽快	無	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.18	2001.03.19	広島市	5歳	女	有	経過観察中	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.17	2001.03.19	広島市	6歳	女	有	経過観察中	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.17	2001.03.19	熊本県	7歳	男	有	不明	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.18	2001.03.19	熊本県	2歳	女	有	不明	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.14	2001.03.17	山梨県	20歳	男	有	治癒	無	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.17	2001.03.17	奈良県	13歳	女	有	経過観察中	無	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.15	2001.03.16	青森県	9歳	男	有	不明	無	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.15	2001.03.16	岩手県	44歳	女	有	不明	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.15	2001.03.16	熊本県	13歳	女	有	不明	不明	喉
初回	INF.A(H1)	2001.03.16	2001.03.16	熊本県	10歳	男	有	不明	不明	喉

# **IDSC** Infectious Disease Surveillance Center National Institute of Infectious Diseases

キャンペーン



▶ ENGLISH

## 国立感染症研究所 感染症情報センター

**新掲載**  
新掲載

**トピックス**  
インフルエンザなど

**センター紹介**  
情報センター紹介

**IDIR**  
感染症発生动向調査週報

**IASR**  
病原微生物検出情報月報

**免疫状況**  
感染症流行予測調査

**世界**  
海外感染症情報

**耐性菌**  
薬剤耐性菌情報

**人獣感染**  
人獣共通感染症

**感染症各論**  
感染症各論

**地域保健**  
地域保健

**予防接種・旅行医学**  
予防接種・旅行医学





**実地疫学養成コース**  
実地疫学養成コース

537746

**NIID**

感染研のページへ



 多剤耐性サルモネラ <i>Salmonella</i> Typhimurium DT104
 ESBL ESBLについて
 VRE バンコマイシン耐性腸球菌
 最新情報 IASRの情報へ

平成11年度科学技術振興調整費  
「院内感染の防止に関する緊急研究」報告書(pdf)  
(上記報告書の閲覧にはAdobe Acrobat Reader日本語版が必要です。)

[HOME IDSC](#)  
IDSCホームページへ



- 
- 溶血レンサ球菌レファレンスセンター報告書(短縮版) (pdf file 353K) **NEW**
  - シラミ症とその対策 (昆虫医科学部)
  - アデノウイルス7型 Adenovirus type 7 (感染症情報センター病原診断室)
  - グラフ インフルエンザウイルス (病原微生物検出情報)
- 

## リンク集

### <結核 Tuberculosis>

- (財) 結核予防会結核研究所

### <クリプトスポリジウム症 Cryptosporidiosis>

病原体・疫学

- 国立感染症研究所寄生動物部原生動物室
- 東京都立衛生研究所

### <ツツガムシ病 Tsutsugamushi disease>

- 東大医科研免疫学研究部
- 

HOME IDSC

トピックス



HOME IDSC

IDSCホームページへ

# ジフテリア予防対策マニュアル

国立感染症研究所 細菌・血液製剤部  
衛生微生物技術協議会レファレンス委員会  
ジフテリア小委員会

## ジフテリアの基礎知識

[高橋元秀 小宮 貴子 国立感染症研究所、細菌製剤第3室]

(1)はじめに
(2)ジフテリア
(3)ジフテリア菌
(4)細菌学的及び血清学的検査法
(5)予防と疫学調査
(6)治療
(7)関連検査項目
(8)おわりに
ジフテリア抗毒素価測定実施機関

### ジフテリア感染症血清診断、情報受付窓口

ジフテリア血清診断に関する問い合わせおよび情報の受付は以下の機関で行っております。

衛生微生物技術協議会レファレンス委員会・ジフテリア小委員会			
委員長 荒川直親	国立感染症研究所 細菌・血液製剤部長	〒208-0011 東京都武蔵村山市学園4-7-1	TEL:042-561-0771 FAX:042-561-7173
高橋元秀 小宮貴子	同上 細菌製剤第3室長 同上	〒208-0011 東京都武蔵村山市学園4-7-1	TEL:042-561-0771 FAX:042-561-7173
八柳 潤	秋田県衛生科学研究所 微生物部	〒010-0874 秋田市千秋久保田町6番6号	TEL:0188-32-5005 FAX:0188-32-5938
宮田義人	大阪府立公衆衛生研究所	〒537-0025 大阪市東成区中道1丁目3番69	TEL:06-972-1321 FAX:06-972-2393
杉山 明	三重県科学技術振興センター 保健環境研究所 生命科学グループ	〒512-1211 四日市市桜町3690-1	TEL0593-29-3800 F A X 0593-29-3004
帆足喜久雄	大分県衛生環境研究センター	〒870-0946 大分市大字曲芳河原団地	TEL:0975-69-0802 FAX:0975-69-5150

本マニュアルの問い合わせ先  
国立感染症研究所 細菌製剤第3室  
TEL:042-561-0771(内線544)  
FAX:042-561-7173  
高橋元秀、小宮貴子

1. はじめに  
近年、日本国内ではジフテリアトキソイドの接種によりジフテリア患者は激減し、図1に示すように、年間数例が散発的

## 平成12年度 感染症危機管理研修会

日 程 表

受 講 者 名 簿

講 義 資 料

主催：国立感染症研究所・国立公衆衛生院

協力：厚生省大臣官房厚生科学課

厚生省保健医療局地域保健・健康増進栄養課

厚生省保健医療局結核感染症課

厚生省生活衛生局食品保健課

厚生省医薬安全局安全対策課

平成12年6月14日（水）・15日（木）

平成 12 年度 感染症危機管理研修会日程表

1 日目 6 月 14 日 (水)

- 9:30-10:00 受付
- 10:00-10:10 開会の挨拶  
国立感染症研究所所長 竹田美文
- 第1セッション 資料NO.
- 10:10-10:30 厚生省健康危機管理について . . . . . 1  
厚生省大臣官房厚生科学課健康危機管理官 唐澤 剛
- 10:30-10:50 感染症新法施行 1 年にあたり . . . . . 2  
厚生省保健医療局結核感染症課長 中谷比呂樹
- 10:50-11:20 感染症危機管理と実地疫学専門家養成コース (FETP) . . . . . 3  
国立感染症研究所感染症情報センター長 岡部信彦
- 11:20-11:50 米国における感染症危機管理 . . . . . 4  
国立感染症研究 FETP コンサルタント Dr. Michael Kramer  
(米国疾病対策センター : CDC)
- 11:50-13:30 昼食
- 第2セッション：届出疾患、その現状と対応
- 13:30-14:00 一類感染症：出血熱を中心に . . . . . 5  
国立感染症研究所副所長 倉田毅
- 14:00-14:30 二類感染症：コレラ、細菌性赤痢、腸チフスを中心に . . . . . 6  
横浜市立市民病院感染症部長 相楽裕子
- 14:30-15:00 三類感染症：腸管出血性大腸菌 . . . . . 7  
国立感染症研究所細菌部長 渡邊治雄
- 15:00-15:20 休憩
- 15:20-15:50 四類感染症：輸入感染症（マラリア、デング熱など） . . . . . 8  
を中心に  
東京慈恵会医科大学医学部寄生虫学講座教授 大友弘士
- 15:50-16:20 四類感染症：AIDS/STDs . . . . . 9  
京都大学大学院国際保健学講座教授 木原正博
- 16:20-16:50 四類感染症：薬剤耐性菌感染症 . . . . . 10  
国立感染症研究所細菌・血液製剤部長 荒川宜親
- 16:50-17:20 四類感染症：人獣共通感染症（オウム病、Q熱など） . . . . . 11  
を中心に  
日本生物科学研究所理事 山内一也
- 17:30-19:00 情報交換会



2日目 6月15日(木)

第3セッション：最近の話題と事例紹介

(座長：国立公衆衛生院疫学部長 簗輪眞澄)

- 10:00-10:30 予防接種法の見直し . . . . 12  
聖マリアンナ医科大学医学部小児科講座教授 加藤達夫
- 10:30-11:00 院内感染対策 . . . . 13  
国立熊本病院院長 宮崎久義
- 11:00-11:30 事例紹介：結核 . . . . 14  
高知市保健所健康づくり課主幹 豊田誠
- 11:30-12:00 事例紹介：兵庫県でのB型肝炎院内感染事例 . . . . 15  
兵庫県県民生活部健康福祉局医療課室長 今井雅尚
- 12:00-13:30 昼食

第4セッション：感染症集団発生時の対応

- 13:30-14:00 感染症集団発生事例の基本的対応 . . . . 16  
国立感染症研究所感染症情報センター 大山卓昭
- 14:00-16:00 ケーススタディ：感染症集団発生事例  
国立感染症研究所感染症情報センター 大山卓昭
- 16:00-16:15 閉会の挨拶  
国立感染症研究所副所長 倉田 毅

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

3. インフルエンザウイルスに対する HI 抗体価表示方式の改訂と  
その普及に関する研究

分担研究者 田代 真人 国立感染症研究所ウイルス製剤部長

**研究要旨** インフルエンザウイルスの同定・抗原解析および血清学的診断に広く用いられている赤血球凝集抑制試験（HI）試験については、従来から我が国で行われてきた標準法（いわゆる予研法）の HI 抗体価の表示方法が、現在国際的に通用している WHO 方式とは異なっていた。更に、これを WHO 方式に変更するために出された通知が不徹底であり、かえって国内において不統一が生じ、各方面に大きな混乱を招いた。そこで各方面と協議を行い、平成 12 年初頭に WHO 方式への統一を図った。

今回、その後の国内におけるインフルエンザ HI 抗体価の表記方法の実態を検討した結果、概ね順調に WHO 方式に統一されており、大きな混乱は起こっていないことが示された。しかし、旧方式を記載した出版物が依然市販されており、新方式に関する検査手技マニュアルが未刊であることが、今回の変更を不徹底なものにしている。今後、新方式に根拠を与える検査手技マニュアルを早急に刊行する必要がある。

A. 研究目的

インフルエンザウイルスの同定・抗原解析および血清学的診断のためには、手技の手軽さと感度の高さにおいて勝る赤血球凝集抑制試験（HI）試験が最も頻繁に用いられている。しかし、従来我が国で行われてきた標準法（いわゆる予研法）における HI 抗体価の表示方法は、現在国際的に通用している WHO 方式とは異なっており、その抗体価は 4 倍高く表記されているという国際的な齟齬が問題となっていた。

WHO では、1947 年以來 50 年にわたって、世界各地の約 200 カ所の国内インフルエンザセンターをネットワークで結び、国立感染症研究所を含む世界 4 カ所のインフルエンザ協力センターを中心として、インフルエンザの流行動向の把握や分離ウイルス株の抗原解析・遺伝子解析を行ってきた。それに基づいて、次シーズンの流行予測とワクチン株の推奨を行っている。1997 年 9 月に WHO では、インフルエンザサーベイランス体制の基盤を統一することによって、国際協力を推進し、インフルエンザに対する監視活動をより強化することが申し合わされた。その一環として、インフルエンザウイルス株の抗原解析の結果を、米国 CDC で用いられ

ている算出方法による HI 抗体価を用いて表記することとなった。

これを受けて、厚生省の伝染病流行予測事業および病原体サーベイランス事業については、これらの事業に参加している地方衛生研究所等に対して、1997 年 10 月 30 日付けの WHO インフルエンザ協力センター長及び国立感染症研究所呼吸器系ウイルス室長名で出された「同定試験成績の表記変更について」および同年 11 月 20 日付けの「HI 価表記の誤りについて（お詫びと訂正）」の文書によって、今後これらのインフルエンザサーベイランス事業における HI 抗体価の表記を WHO 方式に変更するように伝えた。

しかし、この変更が、同事業に参加していない政令指定都市などの衛生研究所、臨床検査機関、大学等の研究・教育機関、医療機関、医師会、関連学会、ワクチン製造関係者などには通知されなかった。その結果、国内においては、新旧 2 方式のインフルエンザ HI 抗体価の表記が併存することになり、その不統一をめぐって各方面で大きな混乱が生じた。

平成 11 年度に、国立感染症研究所では、国内におけるインフルエンザ HI 抗体価表記方法の統一を図るために各方面と協議を重ね、国際的な WHO 方式の採用に関して合意を得た。その

結果、HI 抗体価表示方式変更の経緯と、新方式についての解説を各方面に配布するとともに、学会誌等にもこれに関する「お詫びをお願い」を掲載してきた。

そこで本年度は、実際に国内においてインフルエンザに関する HI 抗体の測定方法と HI 抗体価の表記方法が、WHO 方式となって統一されているのか否かを検討した。

## B. 研究方法

全国 74 カ所の地方衛生研究所、臨床検査機関、インフルエンザの研究を行っている大学研究室、インフルエンザに関心の高い医師および医療機関、ワクチン製造メーカー、体外診断薬製造メーカーに対して、平成 12 年度において、インフルエンザ HI 抗体の測定方法ならびに HI 抗体価表記法に関して、旧予研法または WHO 方式の何れを用いているかをアンケート調査した。また、平成 12 年度に当該機関およびその他から発表された行政報告、報告書、論文、学会発表、当該診断キットの添付文書等について、何れの方式を用いているかを調査・検討した。

## C. 研究結果

- 1) 全国 74 カ所の地方衛生研究所においては、全て WHO 方式の採用で統一されており、厚生労働省の感染症流行動向調査事業および感染症流行予測事業におけるインフルエンザ HI 抗体価および抗原解析に関する成績は、そのまま国際的に通用し、比較検討できることが明らかになった。
- 2) 7 カ所の代表的な臨床検査機関においては、WHO 方式による HI 抗体の測定法を採用しており、また抗体価の表記法も WHO 方式に変更されていた。更に、パラインフルエンザに関する HI 抗体価の表示も同様に変更されていた。また、ほとんどの検査機関においてその旨が各医療機関に通知されていた。
- 3) 医療機関および医師については、現在ではインフルエンザ HI 抗体価の検査成績が WHO 方式に変更になっており、ほとんどの医師及び検査技師にはこの変更が周知されていた。しかし、普段からインフルエンザに興味の低い一部の医療関係者においては、今回の変更が十分に認識されていない。実際問題として、感染前後およびワクチン接種前後でのペア血清について 4 倍以上の抗体価の上昇を有意と判断する、HI 抗体価の比較においては問題

とはならないが、過去の成績との比較では混乱の原因となろう。今後、更に今回の変更を徹底させる必要がある。

- 4) 大学等の研究機関においては、今回の変更は概ね理解されていた。しかし、従来の研究において旧予研法を用いて行ってきた研究成績を、今後の新方式による成績と比較検討する際には、様々な不都合があるので、研究論文としては一部分の成績に関しては従来法の表記を用いる場合もあり得るものと考えられる。この際には、試験法及び表記法を明記することを徹底する必要がある。
- 5) ワクチン製造メーカーおよび体外診断薬キット製造メーカーについては、抗体価の測定法、表示法、抗原解析法の WHO 方式への統一が徹底していた。特に、診断キットに関しては、添付文書において、手技・操作方法の解説が新方式によるものに変更されていた。更に、これに関連して、パラインフルエンザの HI 抗体測定キットについても、同様の変更がなされていた。

## D. 考察

これまで混乱状態にあった我が国におけるインフルエンザ HI 抗体価の表記方法が統一されたが、その後大きな混乱もなく統一が達成されているものと判断される。しかし、従来の方式を記載した古い出版物や検査マニュアルが未だ改訂されておらず、依然重版され市販されていること、更に最近出版された出版物や教科書にも今回の変更が盛り込まれておらず、今後早急に対処する必要がある。更に今回の変更に準拠した新標準法を記載した検査マニュアル等が未刊なので、多くの機関において、変更の根拠を参照する際に不便を来している。これについても、厚生労働省または国立感染症研究所が早急に必要検査マニュアルを公刊する必要がある。

## E. 結論

今回、その後の国内におけるインフルエンザ HI 抗体価の表記方法の実態を検討した結果、概ね順調に WHO 方式に統一されており、大きな混乱は起こっていないことが示された。しかし、旧方式を記載した出版物が依然市販されており、新方式に関する検査手技マニュアルが未刊であることが、今回の変更を不徹底なものにしている。今後、新方式に根拠を与える検査手技マニュアルを早急に刊行する必要がある。

## F. 健康危険情報

特記事項無し。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Reickert, T., Sugaya, N., Fedson, D., William, G., Simonen, L., Tashiro, M.: The experience in Japan of influenza vaccination of school children. *New Engl. J. Med.* 2001 (in press)
2. Fukuda, K., Takahashi, K., Iwata, Y., Morio, N., Gonda, K., Horimoto, T., Sawada, T., Tashiro, M., Yamaguchi, K., Niwa, S., Shigeta, S.: Immunological and PCR analyses for Borna disease virus in psychiatric patients and blood donors in Japan. *J. Infect. Dis.* 39 (02) 2001 (in press)
3. Kato, A., Ohnishi, Y., Kohase, M., Saito, S., Tashiro, M., and Nagai, Y.: The smallest Y2 of Sendai virus C proteins is fully capable of both counteracting the anti-viral action of interferons and inhibiting viral RNA synthesis. *J. Virol.* 76 2001 (in press)
4. Umino, Y., Tashiro, M.: Inhibition of rubella virus growth by Fungizone. *Vaccine* 2001 (in press)
5. Takeuchi, K., Miyajima N., Kobune, F., and Tashiro, M.: Comparative nucleotide sequence analyses of the entire genomes of B95 a cell-isolated and Vero cell-isolated measles viruses from the same patient. *Virus Genes* 20: 253-257, 2000
6. Okada, H., Kobune, F., Sato, T.A., Kohama, T., Takeuchi, Y., Abe, T., Akayama, N., Tshuchiya, T. and Tashiro, M.: Extensive lymphopenia due to apoptosis of uninfected lymphocytes in acute measles patients. *Arch. Virol.* 145: 905-920, 2000
7. Takeda, M., Takeuchi, K., Miyajima, N., Koabune, F., Ami, Y., Nagata, N., Suzuki, Y., Nagai, Y. and Tashiro, M.: Recovery of pathogenic measles virus from cloned cDNA. *J. Virol.* 74: 6643-6647, 2000
8. Hasan, M.K., Kato, A., Muranaka, M., Yamaguchi, R., Sakai, Y., Hatano, I., Tashiro, M. and Nagai, Y.: Versability of the accessory C protein of Sendai virus: contribution to virus assembly as an additional role. *J. Virol.* 74: 5619-5628, 2000
9. Nishimura, Hitamura, S., Iwasaki, T., Kurata, T., and Tashiro, M.: Characterization of human influenza A (H5N1) virus infection in mice: neuro-, pneumo- and adipotropic infection. *J. Gen. Virol.* 81: 2503-2510, 2000
10. Yamamoto, A., Nakayama, M., Tashiro, M., Ogawa, T., and Kurane, I.: Hydroapatite-coated nylon beads as a new reagent to develop a particle agglutination assay for detecting Japanese encephalitis virus-specific antibodies. *J. Clin. Virol.* 19: 195-204, 2000
11. Fukuda, K., Takahashi, K., Iwata, Y., Mori, N., Gonda, K., Horimoto T., Sawada, T., Tashiro, M., Yamaguchi, K., Niwa, S., and Shigeta, S.: Immunological and PCR analyses for Borna disease virus in psychiatric patients and blood donors in Japan. *J. Infect. Dis.* 39 (in press)
12. 田代真人 遺伝子改変ウイルスによるワクチン開発：トリ H5N1 型インフルエンザウイルスの弱毒化 19 1: 58-64, 2000
13. 田代真人 インフルエンザの問題点と対策 治療学 34 1: 5-9, 2000
14. 田代真人 インフルエンザ：前進するインフルエンザ対策：新型インフルエンザをめぐって 看護学雑誌 64 1: 79-83, 2000
15. T. Saito, M. Tashiro: Vaccines and therapeutics against Influenza. *Pediatrics International* 42 2, 2000
16. 田代真人 最大級の流行病インフルエンザ 総合臨床 49 2: 221-223, 2000

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

なし

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

4. ノーウォーク様ウイルス検出 EIA の開発に関する研究

分担研究者 宮村 達男 国立感染症研究所ウイルス第二部 部長  
協力研究者 武田 直和 国立感染症研究所ウイルス第二部 室長  
協力研究者 名取 克郎 国立感染症研究所ウイルス第二部 主任研究官

**研究要旨** 構造蛋白領域の 5'末端（300bp）を増幅し、その遺伝子の塩基配列を解析してノーウォーク様ウイルス（NLV）を同定し、分類した。遺伝子系統解析から、いまだ発現していない Genogroup I の 1 種類、Genogroup II の 3 種類、計 4 種類のウイルスについてウイルス様中空粒子（VLP）を作製した。VLP に対する高力価血清を作製し、糞便材料から合計 12 血清型の NLV を検出する EIA を開発し評価した。

A. 研究目的

ノーウォーク様ウイルス（NLV）はわが国では小型球形ウイルス（Small Round Structural Virus：SRSV）とほぼ同じ意味で呼ばれているウイルスであるが、小児の急性胃腸炎、大人の嘔吐下痢症、わが国において冬季に頻発するウイルス性集団食中毒の病因ウイルスでもある。NLV が原因である下痢症の患者は先進国、発展途上国を問わず毎年多数発生し、地域を問わず広範に浸潤していることが血清疫学調査から明らかになっている。またカキ関連集団食中毒の原因ウイルスとして食品衛生行政上重要視されているウイルスでもある。

NLV は RNA ポリメラーゼの一部、構造蛋白の一部あるいは全領域、および機能未定同定蛋白をコードする ORF3 領域の比較から、遺伝学的に大きく Genogroup I (GI) と Genogroup II (GII) の 2 群に分類される。GI には約 10 種、GII には約 20 種の遺伝学的に異なる株の存在が明らかになっている。また、各遺伝型に対応した血清型の存在が予想されており、遺伝学的検出、血清学的検出の両面において困難に直面している。さらに、NLV が増殖可能である培養細胞や実験動物はいまだ見いだされず、抗体検出、抗原検出の試薬も無い。

本研究では、NLV の迅速診断法の開発を目的として組換えバキュロウイルスで VLP を作出し、これに対する高力価血清を調製し、患者糞便材料から NLV を迅速に検出する EIA を開発することを目的とする。

B. 研究方法

- (1) データベースの構築：遺伝子解析ソフトウェアパッケージ GCG の Fasta プログラムによって GenBank、EMBL および DDBJ に登録されている NLV 遺伝子を検索し、昨年度作成した我々独自の NLV 用データベースに追加登録した。
- (2) プライマーの設計：NLV 構造蛋白領域を再度検索し、Pretty プログラムで consensus sequence を抽出してこの領域を増幅するプライマーを設計した。
- (3) NLV の遺伝子解析と分類：NLV 遺伝子の構造蛋白領域の 5'末端（300bp）を上記のプライマーを用いて増幅し、その遺伝子の塩基配列を解析した。これらをデータベースに登録し、Pileup プログラムによってこの領域のアラインメントならびに系統解析を行った。
- (4) ウイルス様中空粒子の作製：構造蛋白を発現する組換えバキュロウイルスを作出し、ウイルス様中空粒子産生の有無を生化学的、免疫化学的に解析した。VLP に対する高力価抗体をウサギで作製し、抗原補足抗体として用いた。

C. 研究結果

平成 13 年 2 月現在 GenBank、EMBL、DDBJ に登録されている NLV の RNA ポリメラーゼ

領域を抽出し、昨年作成したポリメラーゼ領域のデータベースに追加しこれらを統合した。200以上の配列の比較が可能になっている。ウイルスポリメラーゼ領域の解析から、新規の NLV は遺伝子型から GI および GII の 2 種のグループに分類されることを確認した。新規の配列を含めデータベースに蓄積された全ての NLV がサッポロウイルスに代表されるサッポロ様ウイルスの遺伝子構造と明らかに異っていた。

本年度は新たに 7 種の構造蛋白全領域の塩基配列データ (1,600 bp) を収集・解析してデータベースを作成した。また、NLV を迅速に分類するために構造蛋白領域の 5' 末端 (300bp) を増幅して遺伝子の塩基配列を解析し、GenBank、EMBL、DDBJ に登録されている配列と統合してデータベースを作成した。これら NLV 構造蛋白 (ORF2) の塩基配列を解析すると、塩基のホモロジーは GI と GII の間で約 50%、同グループ間でも 70%程度であった。20 株の国内の NLV の構造蛋白遺伝子を増幅してその塩基配列を解読し分子系統学的に解析した結果、塩基配列から GI、GII にはそれぞれ少なくとも 12 種類と 19 種類の遺伝子型が存在すると予想された。これらはこれまでの血清学的な分類法の結果と矛盾しない。

本年度は日本で流行した株の中から遺伝子型の異なる 4 株 (GI の 1 株、GII の 3 株) の NLV について組換えバキュロウイルスを用いて発現し、VLP を作製した。またこれらに対する高力価血清を作製した。各発現 VLP は相互に血清学的に異なり、それら 4 株について NLV 抗体測定が可能となった。また、この 4 株は既存の 8 株とも血清学的に異なる株であった。現在、12 株について抗体測定のための EIA キットを作製し、地方衛生研究所で評価してもらった、その結果、電子顕微鏡で NLV が確認されている検体については 70-80% が陽性であった。

#### D. 考察

NLV はプラス一本鎖 RNA 遺伝子を芯に、このまわりに分子量約 60,000 ダルトンの構造蛋白が 180 分子集合して形成される正二十面体構造を有している。近年、患者の糞便から効率良く NLV RNA を抽出する手法、およびプライマーの開発に伴い、この数年は世界各国で PCR による遺伝子の増幅、解析が行われている。ただ現在 RNA ポリメラーゼ領域の塩基配列が勢力的に解析されてきているが、解析の領域によっては本来 GII であるべきウイルスが GI に分類されることもあり多少の混乱が生じてきた。

NLV は遺伝学的にあるいは血清学的に新種のウイルスが同定されてくる可能性が多分に考えられるウイルスであるから、今後構造蛋白領域 ORF2 の 5' 末端 (300bp) の塩基配列データを収集・解析することによってデータベースの充実をはかり、より有効なプライマーの開発を進めてゆく必要がある。

本年度は新たに Genogroup I の 5 種類、Genogroup II の 7 種類の NLV の存在が確認し、このうちの 4 株の中空粒子を作製することに成功し、昨年度の 8 株を加えて 12 株の中空粒子を作製することができた。これらの中空粒子とこれらを抗原にして作製した高力価血清を用いた EIA によって、12 株が血清学的に異なるウイルスであることも明らかとなった。これらを迅速に検出するための抗原 EIA の満足できる検出感度と特異性を持っていた。更なる VLP の発現、抗血清の作製、EIA キットの開発が急務である。

#### E. 結論

NLV は現時点で培養細胞、及び実験動物で培養ができないウイルスである。また、遺伝学的にも、血清学的にも多様性をもって流行している。NLV を迅速に検出するため、本年度は新たに 4 株の構造遺伝子を組換えバキュロウイルスで発現することによってウイルス様中空粒子を作製した。これまでに発現した株を加え、合計 12 種類の血清型の検出が可能になった。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Tuteja R, Li TC, Takeda N, Jameel S. Augmentation of immune responses to hepatitis E virus ORF2 DNA vaccination by codelivery of cytokine genes [In Process Citation]. *Viral Immunol* 2000; 13: 169-178
2. Taniguchi K, Wu H, Maeno Y, Kusuhara Y, Matsuura Y, Takeda N, Urasawa S. Completion of nucleotide sequence of a human rotavirus genome and expression of its structural proteins by baculovirus

- system. *J. Virol.* 2000; in press
3. Tamura M, Natori K, Kobayashi M, Miyamura T, Takeda N. Interaction of recombinant Norwalk virus particles with 105-kilodalton cellular binding protein, a Candidate Receptor Molecule for Virus Attachment. *J. Virol.* 2000; 74: 11589-11597
  4. Someya Y, Takeda N, Miyamura T. Complete nucleotide sequence of the Chiba virus Genome and functional expression of the 3C-like protease in *escherichia coli*. *Virology* 2000; in press
  5. Lin K-H, Chern C-L, Chu P-Y, Cheng C-H, Wang H-L, Sheu M-M, Huang W-L, Pongsuwanna Y, Yamamoto S, Yoshino S, Ishiko H, Takeda N. Genetic analysis of recent Taiwanese isolates of a variant of coxsackievirus A24. *J. Med. Virol.* 2000; in press
  6. Li T-C, Takeda N, Miyamura T. Oral administration of hepatitis E virus-like particles induces a systemic and mucosal immune response in mice. *Vaccine* 2000; in press
  7. Li F, Riddell MA, Seow HF, Takeda N, Miyamura T, Anderson DA. Recombinant subunit ORF2.1 antigen and induction of antibody against immunodominant epitopes in the hepatitis E virus capsid protein. *J Med Virol* 2000; 60: 379-386
  8. Li T-C, Shinzawa H, Ishibashi M, Sata M, Kiso K, Mast EE, Miyamura T, Takeda N. A Empty virus-like particle-based enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to hepatitis E virus. *J. Med. Virol.* 2000; 62: 327-333
  9. Kobayashi S, Sakae K, Natori K, Takeda N, Miyamura T, Suzuki Y. serotype-specific antigen ELISA for detection of chiba virus in stools. *J. Med. Virol.* 2000; 62: 233-238
  10. Kobayashi S, Sakae K, Suzuki Y, Ishiko H, Kamada K, Suzuki K, Natori K, Miyamura T, Takeda N. Expression of recombinant capsid proteins of Chiba virus, a Genogroup II Norwalk-like virus (NLV), and development of an ELISA to detect the viral antigen. *Microbiol. Immunol.* 2000; 44: 687-693
  11. Kobayashi S, Sakae K, Suzuki Y, Shinozaki K, Okada M, Ishiko H, Kamada K, Suzuki K, Natori K, Miyamura T, Takeda N. Molecular cloning, expression, and antigenicity of Seto virus belonging to genogroup I Norwalk-like viruses. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 3492-3494
  12. Hale AD, Tanaka TN, Kitamoto N, Ciarlet M, Jiang X, Takeda N, Brown DGW, Estes MK. Identification of an epitope common to genogroup I Norwalk-like viruses. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 1656-1660
2. 学会発表
1. Ishiko H, Hashimoto O, Takeda N. Rapid detection of Norwalk-like viruses in fresh oysters. In: 100th General Meeting, American Society for Microbiology. Los Angeles, 2000 May 21-25
  2. Ishiko H, Shimada Y, Takeda N. Phylogeny and RT-PCR identification of human enteroviruses based on VP4 sequence. In: 5th Asia-Pacific Congress of Medical Virology. Bali, Indonesia, 2000 June 26-28
  3. Li T-C, Takeda N, Suzuki Y, Ami Y, Miyamura T. Recombinant hepatitis E virus-like particles as an oral vaccine. In: IASL-APASL Joint Meeting 2000. Fukuoka, Japan, 2000 June 2-7
  4. Someya Y, Takeda N, Miyamura T. Complete nucleotide sequence of the Chiba virus genome and functional expression of the 3C-like protease in *E. coli*. In: 34th Joint Working Conference on Viral Diseases, The Japan-US Cooperative Medical Science Program. Inuyama, Japan, 2000 July 20-22
  5. Hale AD, Tanaka TN, Kitamoto N, Ciarlet M, Jiang X, Takeda N, Brown DWG, Estes MK. Identification of an epitope common to genogroup I Norwalk-like viruses. In: Annual Meeting of American Society for Virology. Fort Collins, Colorado, 2000 July 8-12
  6. Sugitani M, Sheikh A, Moriyama M, Komiyama K, Arakawa Y, Li T-C, Takeda N, Ishaque M, Hasan M, Suzuki

- K. Sporadic acute and fulminant hepatitis in Bangladeshi—significance of hepatitis E and B. In: 10th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Diseases. Atlanta, USA.; 2000 April 9-13
7. Anderson D, Li F, Riddle M, Seow H-F, Takeda N, Miyamura T. Subunit ORF2.1 vaccine induces antibody against immunodominant epitopes in the HEV capsid protein. In: 10th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Diseases. Atlanta, USA.; 2000 April 9-13
  8. 染谷雄一, 武田直和, 宮村達男: チバウイルスゲノムのクローニングとウイルス由来プロテアーゼの性質. 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2000 12 月.
  9. 李 天成, 網 康至, 須崎百合子, 武田直和, 宮村達男: ELISA 法による HEV 抗原の検出と診断への応用. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  10. 染谷雄一, 武田直和, 宮村達男: チバウイルスゲノムの全塩基配列の決定と 3C 様プロテアーゼの大腸菌での機能的発現. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  11. 八橋 弘, 辻研一郎, 大畑一幸, 松本武浩, 大黒 学, 井上長三, 古賀満明, 矢野右人, 李 天成, 宮村達男, 武田直和: 散発性急性肝炎における HEV の関与. 第 4 回日本肝臓学会大会, 神戸, 2000 10 月.
  12. 片山和彦, 小嶋慈之, 影山 努, 福士秀悦, 武田直和, 篠原美千代, 内田和江, 島田慎一, 鈴木善幸: Norwalk-like viruses genome 全長を用いた分子系統解析によって得られた genotyping 法. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  13. 小林慎一, 鈴木康元, 栄 賢司, 名取克郎, 武田直和: 食中毒患者から検出されたノーウォークウイルスの遺伝子解析. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  14. 島田康司, 細矢光亮, 斎藤博之, 栄 賢司, 武田直和, 石古博昭: コクサッキーウイルス A 群の遺伝子系統解析による迅速同定. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  15. 小嶋慈之, 片山和彦, 影山 努, 福士秀悦, 武田直和, 篠原美千代, 内田和江, 島田康司: 新たに全塩基配列を決定しえた 9 株を用いた Norwalk-like viruses genome の解析. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  16. 篠原美千代, 内田和江, 島田慎一, 小嶋慈之, 片山和彦, 影山 努, 福士秀悦, 武田直和: 新たに構築した Norwalk-like viruses (NLVs) の検出法と既報の RT-PCR 法との比較. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  17. 影山 努, 小嶋慈之, 福士秀悦, 片山和彦, 武田直和, 篠原美千代, 内田和江, 島田康司: 蛍光プローブを用いた Norwalk-like viruses の高感度検出法の開発. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  18. 橋本 治, 武田直和, 石古博昭: 三カ年におけるカキからの NLVs の検出とその遺伝子解析. 第 48 回日本ウイルス学会総会, 津, 2000 10 月.
  19. 小林慎一, 栄 賢司, 鈴木康元, 宮崎 豊, 鎌田公仁夫, 佐藤俊則, 名取克郎, 武田直和: SRSV の抗原検出 ELISA. 衛生微生物技術協議会第 21 回研究会, 郡山, 2000 7 月.
  20. 名取克郎, 武田直和, 宮村達男, 小林慎一, 栄 賢司, 鎌田公仁夫, 佐藤俊則, 篠崎邦子, 岡田峰幸, 勢戸祥介: Norwalk virus の血清型と抗体検査. 衛生微生物技術協議会第 21 回研究会, 郡山, 2000 7 月.
  21. 石古博昭, 島田康司, 武田直和: VP4 塩基配列に基づいたヒトエンテロウイルスに型鑑別と遺伝系統解析. 第 7 回日本遺伝子診療学会, 2000 6 月.
  22. 中込 治, 中田修二, 大石 功, 大瀬戸光明, 栄 賢司, 川本尋義, 武田直和, 田中智之, 牛島廣治: カリシウイルス科ウイルスの名称と使用法についての提言. 第 41 回日本臨床ウイルス学会, 広島, 2000 5 月.
- H. 知的財産権の出願。登録状況**
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし



## 5. サルモネラが多剤耐性菌 DT104 の検出方法の検討

分担研究者 渡辺 治雄 国立感染症研究所細菌部長

協力研究者 泉谷 秀昌 国立感染症研究所細菌部

**研究要旨** *S. Typhimurium* は、特に子供、老人等に敗血症を起こす感染性腸炎の一つであるが、近年多剤耐性化傾向が強い。特にファージ型 DT104 と呼ばれる菌系が多剤耐性化している。それらの遺伝型について調べた結果、ほとんどが ACSSUT と呼ばれている 5 剤耐性を持ち、その耐性遺伝子群がタイプ I 型のインテグロンにより運ばれていること、および *BlnI*-PFGE の解析から我が国に存在する DT104 は、起源的に同一と考えられるクローンであることが明らかになった。これらの結果から、DT104 を検出する検査法としては、クラス I 型インテグロンの PCR による検出と、*BlnI*-PFGE をもちいた解析が有用であることが示唆された。今後、その標準化を目指す予定である。

### A. 研究目的

我が国では、*Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*)が、1990 年ぐらいまではサルモネラの中で最も多く分離されていたが、1990 年以降は *Salmonella Enteritidis* に追い越されてきている。しかし、欧米諸国においては多剤耐性の *S. Typhimurium* で特にファージ型 DT104 と呼ばれる菌が増加してきており、子供や老人においては致死的な敗血症をおこす感染性腸炎の一つとして臨床的にも大きな問題となってきた。 *S. Typhimurium* DT104 の多くは、アンピシリン (A)、クロラムフェニコール (C)、ストレプトマイシン (S)、サルファ剤 (Su)、テトラサイクリン (T) の 5 剤に耐性で、この耐性パターンは resistant(R)-type ACSSUT と呼ばれている。この 5 剤耐性は染色体上に存在する 2 つのインテグロンを含む約 13kb の領域にコードされている。我が国でも同様な R-type、ファージ型の *S. Typhimurium* が分離されてきている。今後増加することが予想されるので検査体制の確立を行っておくことが必要である。そこで、本年度の研究として、当菌の特徴を解析し、その迅速同定法の確立を目指すと同時に、検査の標準化に向けての検討を行った。

### B. 検査方法

臨床患者由来の *S. Typhimurium* 194 株について検討を行った。4 株の薬剤感受性株と残りは 1 剤以上に耐性を示す株を対象にした。薬剤耐性は KB デスク法により調べた。使用薬剤は、アンピシリン、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、サルファ剤、テトラサイクリン、カナマイシン、スルフィソキサゾール、ゲンタマイシン、セファロチン、セフトキシム、トリメトプリム、ナリジク酸、シプロフロキサシン、ST 合剤の 13 薬剤であった。

ファージ型は、英国 PHLS により供与されたファージセットを用い、決められた方法で判定した。

多剤耐性 *S. Typhimurium* DT104 のインテグロンに共通の配列を含むプライマーを用いて、今回の株に同様なインテグロンが存在するかを PCR 法により調べた。

*S. Typhimurium* DT104 の遺伝学的特徴を調べるため *BlnI* 制限酵素を用いた PFGE 解析を行い、既存のソフトを用いて近似性をデンドログラムで解析を行った。

### C. 研究結果

典型的な DT104 と同様なインテグロンを有する菌株が 194 株中 83 株存在した。これらの菌株のファージ型の内訳は DT104 及びその関連型が 80 株 (DT104 が 73 株、DT104B が 6 株、DT104C が 1 株)、U302 が 2 株であった。DT104 は全てこのインテグロンに陽性であり、陰性のもはなかった。同インテグロン陰性のもは、35 種類のファージ型に分類された。その主なファージ型は、UT (27 株)、DT193 (24 株)、DT194 (11 株)、U302 (9 株) であった。

上記 DT104 インテグロン陽性株と陰性株の R-type の内訳は、陽性株では ACSSUT が 73 株と大半をしめた。一方陰性株では、ACSSuTK (17 株)、ASSuTK (11 株) など計 39 種類の薬剤耐性の組み合わせになっていた。

上記の *S. Typhimurium* を *BlnI* の制限酵素で切断後、PFGE 解析を行い、デンドログラムを書いてみた (図、Clustering analysis)。その結果、DT104 は、クラスターを形成し、その遺伝的起源が同一であることが示唆された。

### D. 考察

多剤耐性 *S. Typhimurium* は、種々ファージ型を示すものが存在するが、その中で DT104 を示すものは特徴的性質を示すことが明らかになった。それは、ほとんど必ず ACSSUT と呼ば

れている 5 剤耐性を保ち、その耐性遺伝子群がタイプ I 型のインテグロンにより運ばれており、我が国に存在する DT104 は、起源的に同一と考えられるクローンが広がっていることが明らかになった。DT104 クローンの検出には、クラス I 型インテグロンの PCR による検出と、*BlnI*-PFGE が有用である。今後、その標準化を目指す予定である。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

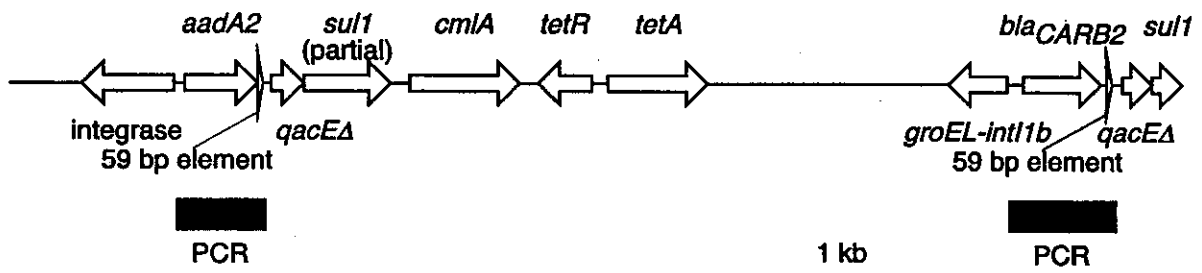
#### 1. 論文発表

Izumiya, H., Terajima, J., Matsushita, S., Tamura, K., and Watanabe, H. Molecular characterization of multidrug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated in Japan by detection of class 1 integron and pulsed-field gel electrophoresis. J. Clin. Microbiol. (in press)

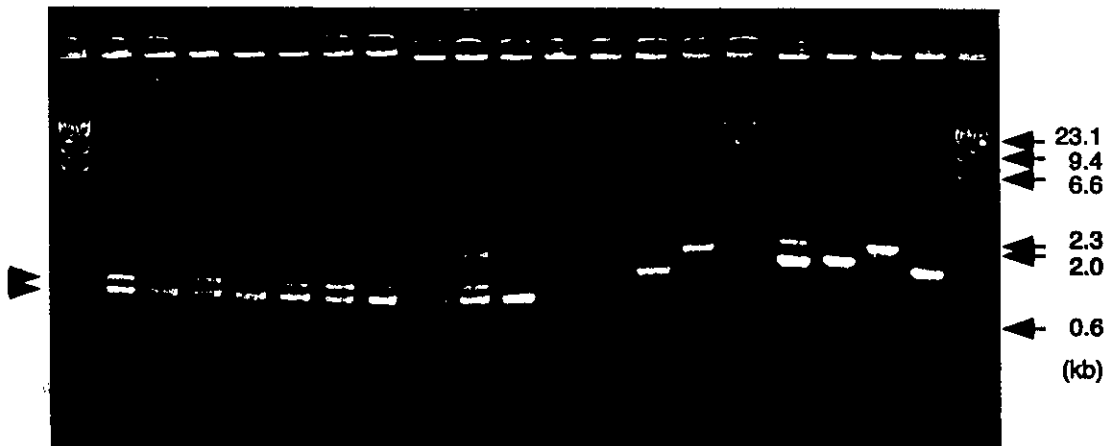
### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

## Gene cluster encoding DT104 multidrug resistance and PCR of class 1 integron of *S. Typhimurium*



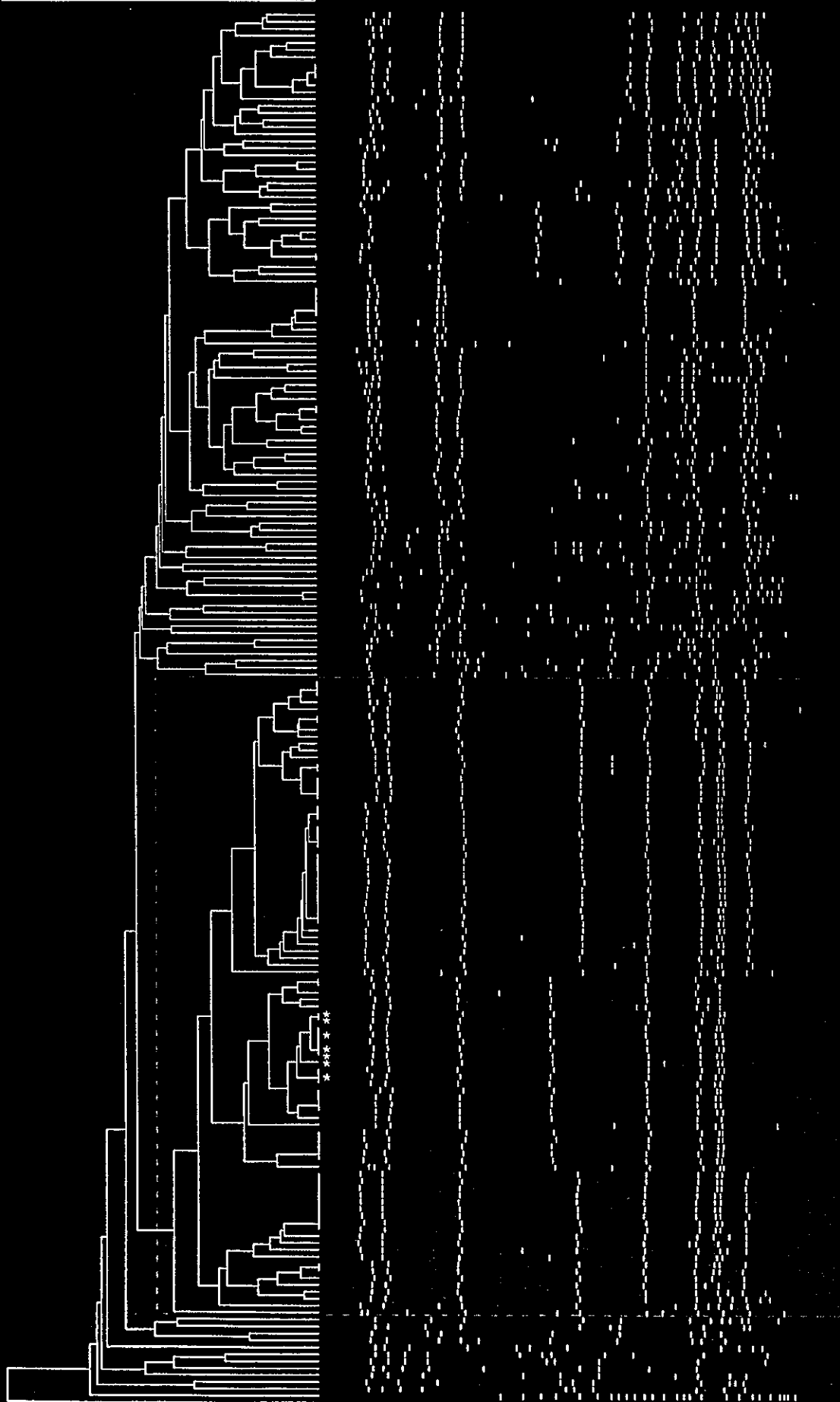
PT: 104 104B U302 29 193 52A UT



\*: US strain

# Clustering analysis of *Bln*-digested PFGE patterns of *S. Typhimurium* of Japan

Similarity (%)  
0 20 40 60 80 100



DT104  
cluster

\*: US strains